



TITLE:

Chemokine CXCL16 mediates acinar cell necrosis in cerulein induced acute pancreatitis in mice( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Sakuma, Yojiro

---

CITATION:

Sakuma, Yojiro. Chemokine CXCL16 mediates acinar cell necrosis in cerulein induced acute pancreatitis in mice. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21632>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	佐 久 間 洋 二 朗
論文題目	Chemokine CXCL16 mediates acinar cell necrosis in cerulein induced acute pancreatitis in mice (マウスのセルレイン誘導急性膵炎においてケモカイン CXCL16 は膵房細胞壊死を調節する)		
(論文内容の要旨)			
<p>背景と目的</p> <p>急性膵炎は重症化すると死亡率が 30%にも及ぶ致死性疾患であり、重症化症例の多くは膵壊死からサイトカインストームの状態を呈する。本研究では急性膵炎の重症化を制御するサイトカインを同定し治療対象にする可能性を探った。</p> <p>1. 急性膵炎患者血清を用いたサイトカイン・ケモカイン発現プロファイル解析</p> <p>急性膵炎の軽症例と重症例および健常人の血清を用いたサイトカイン・ケモカインアレイによって、重症例で有意に CXCL16 値が高いことが分かった。</p> <p>2. マウス急性膵炎重症化モデルを用いた解析</p> <p>野生型マウスに対してセルレインの連続投与を 2 日間継続することで、1 日目には浮腫性膵炎が、2 日目には壊死性膵炎(以後、膵炎重症化モデルと呼ぶ)が誘導されることが確認された。膵炎重症化モデルにおける各種サイトカイン・ケモカイン発現プロファイルを膵組織から抽出した RNA を用いてリアルタイム PCR で解析したところ、おおまかに 3 種の発現パターンを取ることが分かった。<i>Tnfα</i> や <i>IL1β</i> は Day1 にピークを取って Day2 には低下し、<i>IL6</i> や <i>Cxcl2</i> は 2 峰性のピークを取った。その中で、<i>Cxcl16</i> は Day2 の膵障害のピークに一致して、特異的な発現ピークを取ることが分かった。<i>Cxcl16</i> ノックアウトマウスは膵炎重症化モデルにおいて膵炎の発症(Day1)は野生型マウスと同様の感受性であるが、膵炎の重症化(Day2)には抵抗性を示し、浮腫性膵炎にとどまることが分かった。野生型マウスと <i>Cxcl16</i> ノックアウトマウスの膵組織を詳細に解析したところ、<i>Cxcl16</i> ノックアウトマウスは野生型マウスに比べて好中球の浸潤が有意に低下していること、Cxcl16 は主に膵腺房細胞上皮で発現していることが分かった。Cxcl16 は基本的には T 細胞の遊走因子であるため、次に Cxcl16 の下流に存在すると思われるエフェクター分子の検索を野生型マウスと <i>Cxcl16</i> ノックアウトマウスの膵から抽出したタンパクを用いたサイトカイン・ケモカインアレイで行った。すると <i>Cxcl16</i> ノックアウトマウスで好中球遊走因子 Ccl9 の発現が低いことが分かり、リアルタイム PCR でも確認された。また、Ccl9 は Cxcl16 同様、主に膵腺房細胞上皮に発現することが免疫染色で明らかとなった。</p>			

<p><b>3. <i>In vitro</i> 実験による Cxcl16/Ccl9 カスケードの解析</b></p> <p>ラット膵腺房細胞株あるいはマウス膵腺房細胞の初代培養を用いて、Cxcl16 による Ccl9 の発現調節を解析した。すると Cxcl16 の存在下に用量依存性に Ccl9 の発現量が増加し、逆に Cxcl16 の阻害によって Ccl9 の発現が低下することが示された。</p> <p><b>4. 抗 Cxcl16 抗体の膵炎重症化に対する治療効果の検討</b></p> <p>膵炎重症化モデルの Day1 の刺激後に抗 Cxcl16 抗体を投与することによって、Day2 の膵炎の重症化が Ccl9 の発現、好中球浸潤とともに抑制されることが示された。</p> <p>以上の結果から、急性膵炎の重症化・後期相において、膵腺房細胞上皮に発現する Cxcl16 が Ccl9 の発現調節と好中球の浸潤を介して壊死性膵炎の形成に重要な役割を果たしており、Cxcl16 が急性膵炎の治療標的となり得る可能性が示された。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>重症急性膵炎は致命的な炎症性疾患であり、多くの場合は壊死性膵炎を伴う。本研究では浮腫性膵炎から壊死性膵炎への進展を制御する調節因子の同定を目的とした。まず急性膵炎患者血清を用いたサイトカインアレイによって、急性膵炎の重症度に一致して CXCL16 値が上昇することが明らかとなった。次に急性膵炎重症化マウスモデルを用いて、壊死性膵炎をきたす後期相に特異的に膵腺房細胞で Cxcl16 発現が増加することが明らかとなった。Cxcl16 ノックアウトマウスは急性膵炎の発症に対して野生型マウスと同等の感受性を有していたが、壊死性膵炎への進展に対しては抵抗性を示し、その効果は膵への好中球浸潤の低下を伴っていた。マウス膵を用いたサイトカインアレイ、定量的 RT-PCR と免疫染色によって、Cxcl16 ノックアウトマウスでは急性膵炎の際に野生型マウスに比べて膵腺房細胞における好中球遊走因子 Ccl9 の発現が低下していることが分かった。さらにラットおよびマウス膵腺房細胞を用いた <i>in vitro</i> 実験により、Ccl9 発現が Cxcl16 によって誘導されることが明らかとなり、Cxcl16/Ccl9 カスケードの存在が示唆された。最後に、急性膵炎重症化マウスモデルに対して膵炎発症後であっても Cxcl16 中和抗体を投与することで Ccl9 発現と好中球浸潤の低下とともに壊死性膵炎への進展が抑制されることが示された。</p> <p>以上の研究は、重症急性膵炎の病態解明に貢献し新規治療法の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 1 月 16 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日：                      年                      月                      日 以降